CORE
Metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
Provided by Tsukuba Repository

Identification of natural antisense transcripts involved in human colorectal cancer development

著者	高野 恵輔
内容記述	筑波大学博士（医学）学位論文・平成23年3月25日授与（甲第5812号） 付：参考論文
発行年	2011
その他のタイトル	ヒト大腸癌の発癌・進行に関わる内在性アンチセンス転写産物の同定
URL	http://hdl.handle.net/2241/114131

【291】

氏　名（本籍）	高野恵輔（茨城県）
学位の種類	博　士（医　学）
学位記番号	博甲第 5812 号
学位授与年月日	平成 23 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審査研究科	人間総合科学研究科
学位論文題目	**Identification of natural antisense transcripts involved in human colorectal cancer development** （ヒト大腸癌の発癌・進行に関わる内在性アンチセンス転写産物の同定）

主　査	筑波大学教授	医学博士	兵頭一之介
副　査	筑波大学講師	博士（医学）	加野准子
副　査	筑波大学講師	博士（医学）	鈴木英雄
副　査	筑波大学助教	博士（医学）	松坂　賢

論文の内容の要旨

（目的）

近年、DNA からメッセンジャー（センス）RNA の転写が起きる際、約 70% の遺伝子においてその相補的な RNA であるアンチセンス RNA が同時に転写されていることが明らかになり、そのアンチセンス RNA が遺伝子の産物であるタンパク質の発現調節に関わっていることが示唆されている。本研究では、ヒト大腸癌組織のセンス / アンチセンス RNA を網羅的に発現解析することによって、新たな大腸癌のバイオマーカー候補となるアンチセンス RNA を探索することを目的とした。

（対象と方法）

大腸癌原発巣 51 例、肝転移巣 19 例、大腸非癌部 9 例を解析の対象とした。すべての検体は手術で摘出された後、迅速に液体窒素で凍結し、total RNA を抽出した。抽出した total RNA をランダムプライミング法によってラベリングを行い、独自に設計したヒトセンス / アンチセンス RNA が解析可能なカスタムマイクロアレイを用いて、アンチセンス RNA の網羅的発現解析を行った。発現解析には GeneSpring GX10 を用いて、階層的クラスター解析や主成分分析（PCA）を行った。また、マイクロアレイの結果を確認するために定量 PCR を Strand-specific RT-qPCR 法で行った。

（結果）

大腸癌原発巣 51 例と非癌部 9 例から抽出した total RNA を、ヒトセンス / アンチセンス RNA が解析可能なカスタムマイクロアレイを使用して網羅的発現解析を行った。大腸癌原発巣と非癌部で、発現量が有意水準（$p<0.001$）で 4 倍以上増加もしくは減少しているアンチセンス RNA を 415 種同定した。階層的クラスター解析の結果、大腸癌原発巣と非癌部は明確にクラスター分類された。さらに、PCA を行うと、大腸原発巣と非癌部は第 1 主成分（PC1）と第 2 主成分（PC2）を用いて明確に区別することができた。アンチセンス RNA 415 種の中の上位 20 種から抽出した *LRRC24*、*SLC26A3*、*IGJ* に関して、マイクロアレイで得られた結果を定量 PCR で確認した。*SLC26A3* と *IGJ* のアンチセンス RNA の発現量は非癌部と比べて大腸癌原発巣で

減少し、*LRRC24* のアンチセンスRNAの発現量は増加していた。定量PCRで得られたアンチセンスRNAの発現量の傾向はマイクロアレイの結果とほぼ一致していた。肝転移を伴わない大腸癌原発巣（PT-Hep(－)）と肝転移を伴う大腸癌原発巣（PT-Hep(+)）の間のアンチセンスRNAの発現のクラスター解析を行ったところ、明確なクラスターは得られなかった。原発巣と肝転移巣も同様の結果であった。

(考察)

カスタムマイクロアレイによる網羅的発現解析により、大腸癌原発巣と非癌部で有意に発現に差がある415種のアンチセンスRNAを世界に先駆けて同定し、大腸癌原発巣と非癌部が明確に区別できることを証明したことからアンチセンスRNAの網羅的解析は新たな大腸癌診断法になると考えられる。PT-Hep(+)とPT-Hep(－)のアンチセンスRNAのクラスター解析を行うと、大腸癌原発巣と非癌部のときと比べて、明確に両者を分けることはできず、大腸癌原発巣と非癌部の変化と比べると小さいことが示唆された。

今後は、他の臓器の癌に対して網羅的解析を行い、アンチセンスRNAのカタログを作ることで、癌の発生・進行のメカニズムの解明や、新たなバイオマーカーの開発の基盤となることが期待できる。しかし、網羅的解析により抽出されたアンチセンスRNAはどのような役割を果たしているかは不明な点が多く、その機能解析が必須であると考える。

審査の結果の要旨

本論文では、カスタムマイクロアレイを使用してアンチセンスRNAの網羅的発現解析を行い、ヒト大腸癌で発現量が有意に変化するアンチセンスRNAをはじめて同定している。審査では、全般的な研究方法と結果の解釈あるいは血液サンプルを用いた臨床実用化へ向けた研究と費用対効果などについて質疑が行われたが、論文提出者は、これに適切に回答した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。